王松磊,陈兵,董士远,等. 加热条件对糖基化罗非鱼鱼鳞胶原肽理化及消化特性的影响 [J]. 食品工业科技,2026,47(5):61−70. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120225

WANG Songlei, CHEN Bing, DONG Shiyuan, et al. Effects of Thermal Processing Conditions on the Physicochemical and Digestive Properties of Glycated Tilapia Scale Collagen Peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(5): 61−70. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120225

·研究与探讨·

加热条件对糖基化罗非鱼鱼鳞胶原肽理化及消化特性的影响

王松磊[1],陈　兵[1],董士远[1,2,*],肖正元[1],李　萌[1]

(1.中国海洋大学三亚海洋研究院,海南三亚 572000;
2.中国海洋大学食品科学与工程学院,山东青岛 266000)

摘　要:本研究系统探究了罗非鱼鳞胶原肽(TSCP)与低聚半乳糖(GOS)在不同热处理条件(80、100、120 ℃)下制备的糖基化修饰产物(G-TSCP)的理化特性及消化特性。通过测定 G-TSCP 的色差(Δ*E*)、pH、荧光强度、接枝度及糠氨酸含量等指标评价其糖基化程度,并采用傅里叶变换红外光谱(FTIR)、体外模拟消化实验及分子排阻色谱对糖基化肽的结构特征及消化特性进行分析。结果表明,随加热时间延长,G-TSCP 接枝度、Δ*E* 值及荧光强度均显著增加(P<0.05),而 pH 显著降低(P<0.05);其中,100 ℃ 加热 60 min 制备的 G-TSCP 接枝度达到 9.58%±0.23%,Δ*E* 值为 4.39±0.13,荧光强度为 502803±8089 Rfu,均为各处理组最高值;120 ℃ 加热 20 min 制备的 G-TSCP pH 最低(7.55±0.03)。相关性分析显示,G-TSCP 接枝度与 Δ*E* 值(r=0.83,P<0.01)及荧光强度(r=0.77,P<0.05)呈显著正相关,而 pH 与 Δ*E* 值(r=−0.81,P<0.01)及荧光强度(r=−0.87,P<0.01)呈极显著负相关。FTIR 分析表明,糖基化修饰导致 TSCP 二级结构发生改变,较未修饰的 TSCP,在 120 ℃ 下加热 20 min 后 G-TSCP 的 β-转角结构比例从 46.5% 降至 24.6%,而无规则卷曲结构比例从 12.4% 增至 33.6%。体外模拟消化实验表明,G-TSCP 的水解度较未修饰 TSCP 显著降低 22.18%~68.8%(P<0.05),其中 120 ℃ 加热 20 min 制备的 G-TSCP 在肠消化阶段的水解度最低(6.65%±0.18%);100 ℃ 和 120 ℃ 制备的 G-TSCP 水解产物在 1000~5000 Da 分子量区间的比例较 TSCP 显著提高。综合上述结果,当加热条件为 100 ℃/40 min 时,G-TSCP 的接枝度为 8.07%,糠氨酸含量为 5.83 μg/100 mg TSCP,糖基化程度适中,其胃肠消化水解度为 10.27%,显著低于 TSCP 的消化水解度(P<0.05)。因此,在 100 ℃/40 min 加热条件下制备的 G-TSCP 可有效调控胶原肽的结构特性,降低其消化性,这为缓释功能性肽制品开发提供了理论依据。

关键词:罗非鱼鳞胶原肽,加热,糖基化,理化性质,消化特性

中图分类号:TS254.9　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1002−0306(2026)05−0061−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120225

本文网刊:

Effects of Thermal Processing Conditions on the Physicochemical and Digestive Properties of Glycated Tilapia Scale Collagen Peptides

WANG Songlei[1], CHEN Bing[1], DONG Shiyuan[1,2,*], XIAO Zhengyuan[1], LI Meng[1]

(1.Sanya Institute of Oceanography, Ocean University of China, Sanya 572000, China;
2.College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China)

Abstract: This study investigated the physicochemical and digestive properties of glycated tilapia scale collagen peptides (G-TSCP) reacted with galactooligosaccharides (GOS) under different thermal processing conditions (80, 100, 120 ℃). The glycation degree was evaluated through analysis of colorimetric parameters (Δ*E*), pH variation, fluorescence intensity, grafting degree, and furosine level. Structural characterization was performed using Fourier transform infrared spectroscopy

收稿日期: 2024−12−17

基金项目: 海南省重点研发项目(ZDYF2023XDNY062)。

作者简介: 王松磊(1998−),男,硕士研究生,研究方向:水产品高值化利用,E-mail:1599310715@qq.com。

*** 通信作者:** 董士远(1974−),男,博士,教授,研究方向:水产品高值化利用,E-mail:dongshiyuan@ouc.edu.cn。

(FTIR), while digestibility was assessed through *in vitro* simulated gastrointestinal digestion coupled with size exclusion chromatography (SEC). Thermal processing analysis revealed significant time-dependent alterations (P<0.05): grafting degree (9.58%±0.23%), ΔE values (4.39±0.13), and fluorescence intensity (502803±8089 Rfu) reached maximum levels at 100 ℃/60 min treatment, while the most pronounced pH reduction (7.55±0.03) occurred at 120 ℃/20 min processing. Significantly positive correlations were observed between grafting degree and ΔE (r=0.83, P<0.01) and fluorescence intensity (r=0.77, P<0.05), while pH was negatively correlated with these parameters (r=−0.81, P<0.01; r=−0.87, P<0.01). Secondary structure analysis indicated that glycation-induced conformational changes were characterized by the decrease of β-turn content (from 46.5% to 24.6%) and the increase of random coil structures (from 12.4% to 33.6%) under the processing condition of 120 ℃/20 min when compared to native TSCP. Digestibility assessments demonstrated that G-TSCP exhibited lower hydrolysis degree (from 22.18% to 68.8%) when compared to native TSCP (P<0.05), with the 120 ℃/20 min processed sample showing minimal intestinal digestibility (6.65%±0.18%). SEC analysis revealed that thermal processing at both 100 ℃ and 120 ℃ significantly enhanced the ratio of 1000~5000 Da fractions in G-TSCP, showing higher proportions than unmodified TSCP. Under optimal heating conditions (100 ℃/40 min), the glycated tilapia scale collagen peptide (G-TSCP) exhibited a grafting degree of 8.07% and a furosine content of 5.83 μg/100 mg TSCP, indicating moderate glycation. Compared to native TSCP, G-TSCP demonstrated significantly reduced gastrointestinal hydrolysis (10.27%) (P<0.05), suggesting enhanced digestibility resistance. These findings reveal that controlled thermal glycation can modulate collagen peptide structure and attenuate digestion, providing a potential strategy for designing sustained-release bioactive peptide formulations.

Key words: tilapia scale collagen peptides; heating; glycation; physicochemical properties; digestive properties

水产胶原肽主要是从水产生物的鱼皮、鱼骨、鱼鳞等加工副产物中酶解获得。与畜禽胶原肽(提取自猪、牛等)相比,水产胶原肽具有低抗原性、低过敏性等优势[1]。许多研究表明,水产胶原肽具有抗氧化、抗菌、降血压与降血糖等功能,目前已广泛作为食品配料或保健食品的功效成分进行应用[2]。

罗非鱼养殖成本较低,含有较多的优质蛋白,被称为“二十一世纪之鱼”,在国内外市场中的需求量较大。近年来罗非鱼的产量达到了 180 万吨[3],在罗非鱼加工过程中会产生大量下脚料,如鱼皮、鱼鳞等,约占鱼体总质量 40%~50%,下脚料中约有 10%左右的鱼鳞资源被浪费,罗非鱼鳞的大量消耗会导致潜在收入的损失以及处理成本的增加。因此,从环境和经济的角度来看,有必要从罗非鱼鳞中回收功能性成分,特别是胶原肽。

美拉德反应(maillard reaction)是还原糖和氨基酸之间发生的一种非酶促反应,可以有效改善蛋白质或多肽感官风味与抗氧化能力等功能特性,在食品领域备受关注[4]。大量研究制备并表征了不同糖与蛋白质或多肽的美拉德反应产物(maillard reaction products, MRPs),证明了美拉德反应不仅对蛋白质功能性质具有一定的改善作用,还可以提升其消化稳定性,具有改善肠道菌群,维持肠道健康的潜在作用[5−7]。Yang 等[8] 研究发现糖基化修饰显著降低了卵清蛋白的消化性,且糖基化的卵清蛋白经过胰蛋白酶解后的肽段数量更低。Han 等[9] 利用葡萄糖对草鱼肌原纤维蛋白进行糖基化修饰发现,糖基化修饰降低了肌原纤维蛋白的消化性,同时可以显著提升粪便微生物多样性,促进肠道微生物的调节。此外,反应温度、反应时间、pH、水活度、反应物种类及配比等因素对美拉德反应均有影响。在这些因素中,加热条件的确定非常重要,因为不同的加热温度与时间会遵循不同的反应途径,从而生成具有不同理化和功能特性的化合物。因此,通过调节加热条件来控制美拉德反应的进程,对控制 MRPs 的理化性质和功能性质具有重要意义。

本论文旨在探究不同加热条件下低聚半乳糖(galactooligosaccharide, GOS)糖基化修饰对罗非鱼鳞胶原肽(tilapia scale collagen peptide, TSCP)色泽、pH、荧光强度、接枝度、糠氨酸含量的影响,并通过傅里叶红外光谱分析糖基化修饰对 TSCP 结构的影响。此外,通过体外模拟消化,探究糖基化修饰前后 TSCP 消化性的变化。本论文为水产胶原肽新产品开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

罗非鱼鳞胶原肽(分子质量 2000 Da) 海口华研胶原科技有限公司;低聚半乳糖(纯度为 80%) 云浮市新金山科技股份有限公司;猪胃蛋白酶(3000 U/mg)、胰蛋白酶(250 U/mg) 德国 BioFroxx 生物科技;邻苯二甲醛、L-丝氨酸 上海麦克林生化科技股份有限公司;糠氨酸 美国 Sigma 公司;β-巯基乙醇 上海易恩化学技术有限公司;其他试剂(分析纯) 西陇科学股份有限公司。

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 上海力辰仪器科技有限公司;YS6060 台式色差仪 广州卓谐仪器设备有限公司;pH 计 无锡雷磁仪器仪表有限公司;UV-6100 紫外可见分光光度计、F-4600 荧光光谱仪 日本 Hitachi 公司;IRTracer-100 傅里叶变换红外光谱仪 岛津(上海)实验器材有限公司;Agilent 1260Infinity Ⅱ 高效液相色谱仪 安捷伦科技(中国)有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　糖基化胶原肽的制备　将 TSCP（10 mg/mL）与 GOS 按照 4∶1（m/m）的比例溶于磷酸盐缓冲液（0.05 mol/L，pH8.0），磁力搅拌 20 min，使其充分混合。将混合样品分为三组，保存在 25 mL 玻璃瓶中。参考 Niu 等[10] 与 Chen 等[11] 的研究，并结合工业湿热杀菌条件，将第 1 组样品分别置于 80 ℃ 水浴 60、90、120 min；第 2 组样品分别置于 100 ℃ 油浴 20、40、60 min；第 3 组样品分别置于 120 ℃ 油浴 10、15、20 min。加热结束后进行冷却，置于 −20 ℃ 下保存。未添加 GOS 的 TSCP 为空白组。

1.2.2　色泽的测定　参考夏明敬等[12] 的方法，选择 D65 光源，用色差仪测定糖基化胶原肽（glycated tilapia scale collagen peptide，G-TSCP）溶液的颜色，以未添加 GOS 的 TSCP 溶液为对照组。记录参数：L^*、a^*、b^*值，并计算整体颜色差异 ΔE，其中 L^*、a^*、b^*与 ΔE 分别表示亮度、红度、黄度和总色差。总色差的计算公式如下：

$$\Delta E^2 = \Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}$$

式中：ΔL^*、Δa^*和 Δb^*分别表示糖基化胶原肽样品与空白组的 L^*、a^*和 b^*之间的差值。

1.2.3　pH 测定　参考黄正花等[13] 的方法，采用 PB-10 pH 计测定不同加热条件下 G-TSCP 的 pH。

1.2.4　荧光吸收强度测定　晚期糖基化产物 AGEs 自身具有一定的荧光特性，在激发波长（λ_{Ex}）347 nm，发射波长（λ_{Em}）415 nm 下测定 10 mg/mL G-TSCP 溶液的荧光吸收强度[14]。

1.2.5　游离氨基及接枝度测定　参考 Wang 等[15] 方法，通过 OPA 法测定游离氨基含量，并计算 G-TSCP 的接枝度。称取 40 mg 邻苯二甲醛溶于 1 mL 甲醇，然后分别加入 25 mL 0.1 mol/L 的四硼酸钠缓冲液、2.5 mL 20%（m/m）SDS 和 100 μL β-巯基乙醇，充分混匀，加入超纯水定容至 50 mL，即为 OPA 试剂。取 4 mL OPA 试剂，加入 200 μL 10 mg/mL 的 G-TSCP 溶液（将 100 mg 冻干样品溶于 10 mL 超纯水）后混匀，在 35 ℃ 水浴锅中避光反应 2 min。待反应结束后，测定 340 nm 处的吸光度。用丝氨酸配制标准溶液并绘制标准曲线，得到标准曲线方程为：y=0.34636x+0.46015（R^2=0.993），根据标准曲线计算样品的游离氨基含量及接枝度。接枝度计算公式如下：

$$\text{接枝度}(\%) = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100$$

式中：C_0 为反应前的游离氨基浓度，mg/mL；C_1 为糖基化反应后的游离氨基浓度，mg/mL。

1.2.6　糠氨酸含量测定　参考标准 NY/T 939-2016《巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中复原乳的鉴定》[16] 与 Li 等[17] 的研究方法，采用高效液相色谱法（high performance liquid chromatography，HPLC），配制糠氨酸标准溶液并绘制标准曲线，得到标准曲线方程为：y=9.99463x+17.79609（R^2=0.999），根据标准品的保留时间读取样品中糠氨酸的信号强度，对其进行定量分析。

1.2.6.1　样品制备　将 20 mg 冻干样品与 6 mL 10.6 mol/L 盐酸混合，加入到安瓿瓶中，静置 2 min，向安瓿瓶中充入氮气后密封，置于 110 ℃ 恒温鼓风干燥箱水解 23 h。水解完全并冷却后，用滤纸过滤除杂。取 1.0 mL 水解液，0.22 μm 的水系滤膜过滤，采用高效液相色谱进行测定。

1.2.6.2　HPLC 条件　色谱柱：SUPELCO C_{18}（5 μm，250 mm×4.6 mm）；柱温：30 ℃；波长：280 nm；流速：0.6 mL/min；进样量：10 μL；流动相 A：0.1% TFA 乙酸铵溶液（m/m），流动相 B：甲醇；梯度洗脱的程序如表 1 所示。

表 1　洗脱梯度
Table 1　Elution gradient

序号	时间（min）	流速（mL/min）	流动相A（%）	流动相B（%）
1	−	1.00	100.00	0.00
2	0.00~16.00	1.00	86.80	13.20
3	16.00~16.50	1.00	0.00	100.00
4	16.50~25.00	1.00	100.00	0.00
5	25.00~30.00	1.00	100.00	0.00

1.2.7　傅里叶变换红外光谱测定　参考陈晴[18] 的方法，采用傅里叶变换红外光谱法（FTIR）测定糖基化修饰对 TSCP 结构的影响。取 2 mg 冻干粉末与溴化钾按 1∶100 的质量比充分混合研磨并压片，采用傅里叶变换红外光谱仪进行扫描测定。扫描波数范围为 4000~400 cm^{-1}，分辨率 4 cm^{-1}，扫描次数 32 次。红外光谱数据经傅里叶去卷积与二阶导数处理，分析酰胺Ⅰ带 1600~1700 cm^{-1} 处二级结构的变化情况。

1.2.8　体外模拟消化　参考曹振海等[19] 的方法进行体外模拟消化，模拟消化液的具体配制见表 2。

表 2　模拟消化液配制
Table 2　Preparation of simulated digestion solution

成分	溶液浓度（mol/L）	胃液模拟液（SGF）（mL）	肠液模拟液（SIF）（mL）
KCl	0.50	7.00	7.00
KH_2PO_4	0.50	1.00	1.00
$NaHCO_3$	1.00	30.00	45.00
NaCl	2.00	40.00	40.00
$MgCl_2·H_2O$	0.15	0.10	0.50
$(NH_4)_2CO_3$	0.50	0.50	−
$CaCl_2·H_2O$	0.30	0.15	0.60
总计		100.00	100.00

模拟胃液：称取 0.05 g 胃蛋白酶与 75 mL SGF 浓缩液混匀，用超纯水定容至 100 mL，调节 pH 至 2.0，置于 4 ℃ 待用。

模拟肠液：分别称取 0.0025 g 胰蛋白酶、0.01 g α-糜蛋白酶和 0.85 g 胆盐与 75 mL SIF 浓缩液混合，

用超纯水定容至 100 mL，调节 pH 至 7.5，置于 4 ℃待用。

将 0.1 g 冻干样品溶于 10 mL 去离子水中，调节 pH 至 2.0。量取 5 mL 样品溶液，按照酶∶蛋白=1∶20(m/m)的比例，加入等体积模拟胃液，37 ℃ 恒温振荡(120 r/min)120 min。将胃消化液用 1 mol/L NaOH 调节 pH 至 7.5，量取 5 mL 胃消化液，按照蛋白∶胰蛋白酶∶α-糜蛋白酶=1∶(1/400)∶(1/100)(m/m/m)的比例加入等体积模拟肠液，37 ℃ 恒温振荡(120 r/min)120 min，完成消化。样品经模拟胃肠消化后立即取出，90 ℃ 水浴灭酶 10 min[20]。

1.2.8.1 消化水解度测定 采用 OPA 法通过测定游离氨基计算样品的消化水解度，方法步骤同 1.2.5。水解度计算公式如下：

$$水解度(\%)=\frac{C_1-C_0}{C_0}\times 100$$

式中：C_0 为消化前的游离氨基浓度，mg/mL；C_1 为消化后的游离氨基浓度，mg/mL。

1.2.8.2 分子排阻色谱测定 参考标准 GB 31645-2018《胶原蛋白肽》[21] 的方法，以细胞色素 C(Mw 12384)、抑肽酶(Mw 6511.44)、杆菌肽(Mw 1423.00)、氧化型谷胱甘肽(Mw 612.63)、还原型谷胱甘肽(Mw 307.32)为标准品，绘制标准曲线，得到标准曲线为：y=−0.205x+6.586(R^2=0.991)。HPLC 条件：柱温 30 ℃，色谱柱：TSKgel G2000SWXL(5 μm，7.8 mm×30 cm)。流动相：乙腈∶水∶三氯乙酸=450∶550∶1(v/v/v)，波长：220 nm，流速：0.5 mL/min，进样量：20 μL，进样时间：30 min。

1.3 数据处理

各组数据平行测定三次，结果用平均值±标准偏差(mean±SD)表示，使用 Excel、Origin2021、SPSS、OMINC、Peakfit 等软件进行数据处理，根据显著性差异分析，P<0.05 表示数据间存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 糖基化修饰对胶原肽色泽的影响

糖基化产物色泽的变化可用来表征糖基化程度[22]。加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽外观及色差的影响如图 1 及表 3 所示。在三种温度下随着加热时间的延长，G-TSCP 的色泽逐渐加深，黄度升高。在不同的加热条件下，120 ℃ 加热 20 min 时样品的 L^*最小(P<0.05)，亮度最低，外观颜色也较深；100 ℃ 加热 60 min 的样品 b^*最高达到 5.58，溶液趋于黄色；a^*在不同加热条件下变化不明显。三种温度下，随着加热时间的延长其 ΔE 值显著增加(P<0.05)。其中，100 ℃ 加热 60 min 时 ΔE 最大(4.39)，说明此条件下糖基化程度最高，美拉德反应后期产物的积累使得溶液色泽发生明显褐变[23]。王晨莹[24] 也得到了类似结论，指出随加热时间延长，蛋清蛋白与低聚麦芽糖反应体系的色泽变化程度逐渐增加。

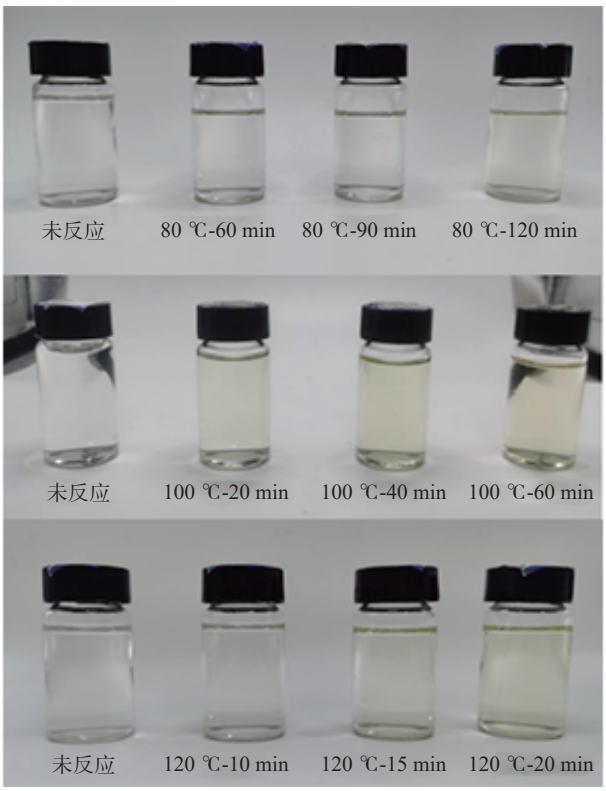


图 1 加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽外观的影响

Fig.1 Effects of heating conditions on the appearance of the glycation of peptides modified by galactooligosaccharide

表 3 加热条件对 G-TSCP 色泽的影响

Table 3 Effects of heating conditions on the color deviation of G-TSCP

温度(℃)	时间(min)	L^*	a^*	b^*	ΔE
0	0	113.86±0.14^{a}	−0.55±0.01^{a}	1.85±0.01^{g}	–
80	60	112.99±0.16^{b}	−1.13±0.02^{b}	2.48±0.13^{f}	1.21±0.06^{g}
	90	112.90±0.12^{bc}	−1.10±0.01^{b}	2.83±0.43^{ef}	1.48±0.19^{ef}
	120	111.71±0.07^{e}	−1.13±0.01^{b}	3.91±0.05^{c}	3.14±0.15^{c}
100	20	112.45±0.12^{d}	−1.11±0.01^{b}	2.58±0.08^{f}	1.66±0.04^{e}
	40	111.88±0.12^{e}	−1.09±0.01^{b}	4.37±0.30^{c}	3.26±0.20^{c}
	60	111.68±0.11^{e}	−1.21±0.01^{c}	5.58±0.18^{a}	4.39±0.13^{a}
120	10	112.95±0.18^{b}	−1.09±0.01^{b}	2.99±0.05^{e}	1.42±0.02^{fg}
	15	112.65±0.18^{cd}	−1.11±0.05^{b}	3.72±0.06^{d}	2.20±0.05^{d}
	20	111.30±0.17^{f}	−1.21±0.01^{c}	4.67±0.04^{b}	3.81±0.07^{b}

注：同列不同小写字母表示不同处理组差异显著(P<0.05)，表4、表5同。

2.2 糖基化修饰对胶原肽 pH 的影响

加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽 pH 的影响如表 4 所示。三个温度下随着加热时间的延长，糖基化肽的 pH 显著降低(P<0.05)，这与郭丽萍等[25] 的研究结论相符。与空白组相比，120 ℃ 加热 20 min 时 G-TSCP 的 pH 下降最显著，降低了 5.86%，这是由于在糖基化反应初期阶段会生成降解产物甲酸、乙酸等酸性物质，在一定程度上降低了溶液的 pH[26]。廖阳等[27] 的研究也指出，随着加热时间延长，低聚木糖与乳清分离蛋白的糖基化产物的 pH 显著降低。

表 4　加热条件对 G-TSCP pH 的影响

Table 4　Effects of heating conditions on pH of G-TSCP

温度(℃)	时间(min)	G-TSCP
0	0	8.02±0.01[a]
80	60	7.92±0.01[b]
	90	7.81±0.02[c]
	120	7.72±0.02[d]
100	20	7.91±0.02[b]
	40	7.80±0.02[c]
	60	7.68±0.03[e]
120	10	7.91±0.02[b]
	15	7.71±0.02[de]
	20	7.55±0.03[f]

2.3　糖基化修饰对胶原肽荧光 AGEs 形成的影响

糖基化产物荧光吸收强度的变化可以用来表征晚期产物 AGEs 的含量变化[28]。加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽荧光强度的影响如图 2 所示。在不同温度下，随着加热时间的延长，G-TSCP 中的 AGEs 含量显著增加（P<0.05），在 100 ℃ 加热 60 min 时的 G-TSCP 荧光强度达到最大值 502803 Rfu。在较长的加热时间如 100 ℃ 加热 40 min 与 120 ℃ 加热 15 min 后，荧光强度的增长速率有所降低，这种变化趋势可能是由于随加热时间延长，胶原肽的内部结构发生改变，蛋白质的去折叠导致部分荧光屏蔽，同时过多还原糖的接入可能会导致荧光淬灭，降低荧光强度的增长速率[29]。

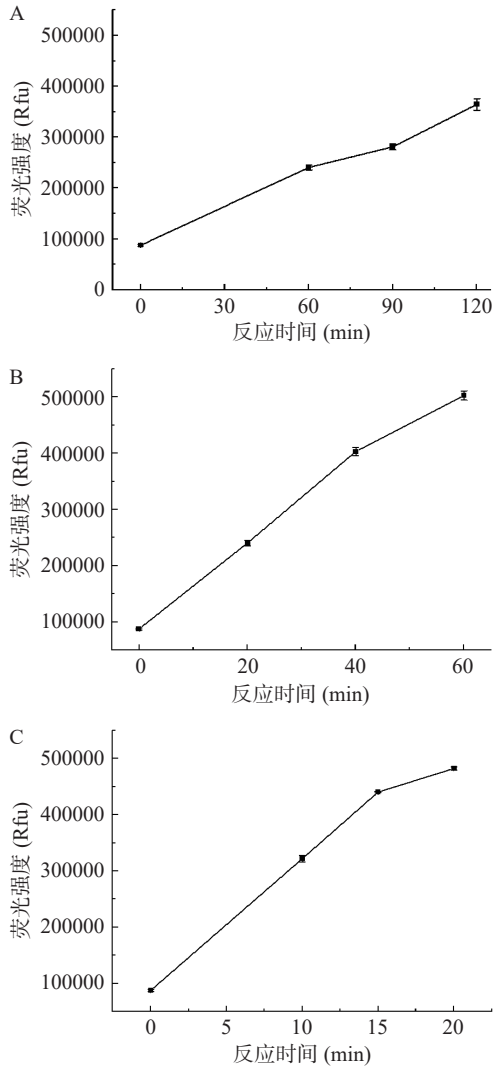


图 2　加热条件对 G-TSCP 荧光强度的影响

Fig.2　Effects of heating conditions on the fluorescence intensity of the glycation of peptides modified by galactooligosaccharide

注：(A)80 ℃，(B)100 ℃，(C)120 ℃，图 6 同

2.4　糖基化修饰对胶原肽接枝度的影响

接枝度是评价蛋白肽糖基化反应程度的重要指标之一[30]。加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽接枝度的影响如图 3 所示。在三种温度下，G-TSCP 的接枝度均随加热时间的延长而增大，表明加热温度与时间是影响糖基化肽接枝度的重要因素，这与刘杰等[31] 的研究相符。100 ℃ 加热条件下 G-TSCP 接枝度较高，加热至 60 min 时达到最大值 9.58%；而 80 ℃ 与 120 ℃ 加热时，G-TSCP 接枝度均低于 8%，糖基化程度较低。罗洲[32] 研究发现短时间加热糖基化牛乳铁蛋白时，其接枝度随加热时间延长而显著增加。

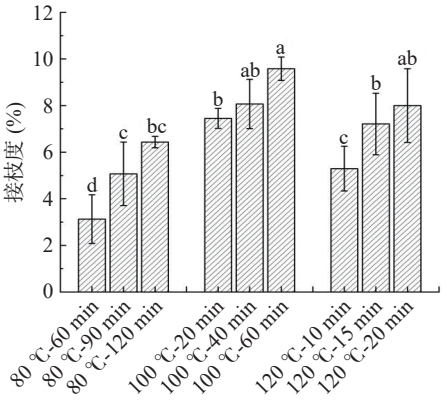


图 3　加热条件对 G-TSCP 接枝度的影响

Fig.3　Effects of heating conditions on grafting degree of the glycation of peptides modified by galactooligosaccharide

注：不同小写字母表示不同处理组差异显著（P<0.05）；图 4、图 7 同。

2.5　糖基化修饰对糠氨酸含量的影响

糠氨酸是 Amadori 产物-果糖赖氨酸的酸水解产物，可作为蛋白肽早期糖基化程度的重要标志物[33]。加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽糠氨酸含量的影响如图 4 所示。80 ℃ 加热条件下 G-TSCP 的糠氨酸含量较高，且随加热时间的延长，其糠氨酸含量缓慢增长；在 100 ℃ 加热 40 min 时，G-TSCP 糠氨酸含量达到峰值（5.83 μg/100 mg TSCP），而在此温度下延长加热时间则会导致其含量降低，这可能是由于糠氨酸在长时间加热条件下，其中间产物转化成晚期产物[34]。当加热温度达到 120 ℃ 时，加热时间 10~15 min 时，糠氨酸含量升高了 6.82%，随后 5 min 内糠氨酸含量又显著降低（P<0.05），这说明在 15~20 min 内 Amadori 产物的降解速度大于形成速度[35]。

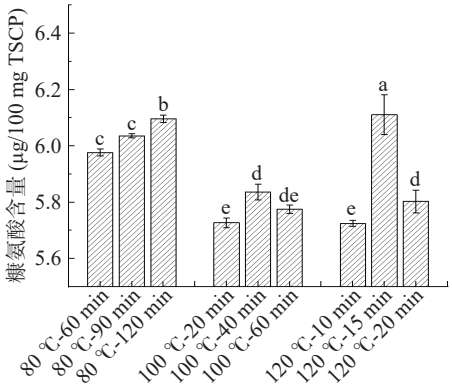


图 4 加热条件对 G-TSCP 糖氨酸含量的影响

Fig.4 Effects of heating conditions on the content of furoamic acid of the glycation of peptides modified by galactooligosaccharide

2.6 加热条件对糖基化修饰指标的相关性分析

加热条件对 G-TSCP 的色差、pH、荧光强度、接枝度与糖氨酸含量的相关性分析如图 5 所示。根据相关性分析结果可以发现，TSCP 的接枝度与整体色差 ΔE 呈极显著正相关（r=0.83，P<0.01），与荧光强度呈显著正相关（r=0.77，P<0.05），这说明 TSCP 的氨基基团在参与糖基化修饰过程中与羰基结合，生成了后期产物类黑素等显色物质与内源荧光物质[31]。荧光强度与整体色差 ΔE 呈极显著正相关（r=0.88，P<0.01），与 pH 呈极显著负相关（r=−0.87，P<0.01），说明糖基化反应中的后期产物也会生成影响溶液 pH 的降解产物[23]。糖氨酸含量与其他指标无显著相关性，可能是糖氨酸作为中间产物，由羰氨缩合反应生成，并参与转化为后期产物，含量处于动态变化中，与其他指标变化趋势有所差异[36]。

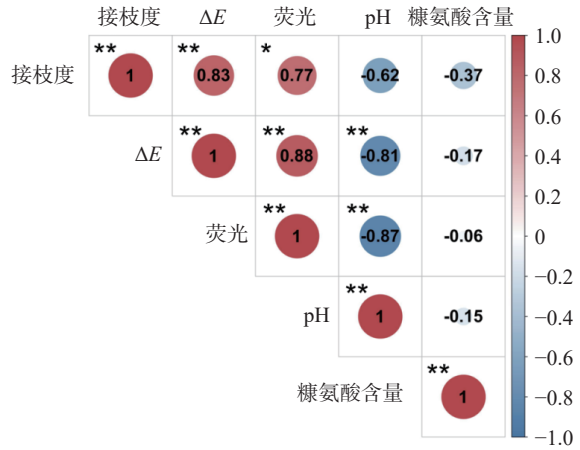


图 5 加热条件对糖基化修饰指标的相关性分析

Fig.5 Correlation analysis of glycation modification indexes under heating conditions

注：*表示糖基化修饰指标之间具有显著相关性（P<0.05）；**表示糖基化修饰指标之间具有极显著相关性（P<0.01）。

2.7 傅里叶变换红外光谱分析

低聚半乳糖糖基化胶原肽的傅里叶变换红外光谱如图 6 所示。TSCP 的吸收峰在 3306 cm^{-1} 处发生蓝移，说明在糖基化过程中胶原肽的氨基基团结构发生变化，引起 N-H 变形振动，或者体系中的游离羟基形成氢键，影响了-OH 的伸缩振动[37]。相比于胶原肽，80 ℃ 与 120 ℃ 下的 G-TSCP 在 1651 cm^{-1} 处的吸收峰强度有所降低，但 100 ℃ 下加热 40 min 的 G-TSCP 吸收峰变化不明显，这可能是由于 Amadori 产物、吡嗪及希夫碱的生成，使此处的吸收峰增强，同时 C=O 和 N-H 参与到美拉德反应中逐渐聚合成大分子化合物，又导致此处吸收峰减弱，最终造成该处的吸收峰变化趋势不明显[38]。1070~1000 cm^{-1} 吸收峰是由糖分子中 C-O-C 官能团的伸缩振动引起，该结构是低聚糖的特征结构，可以发现该基团在糖基化肽中的吸收峰强度明显降低，说明 GOS 参与了糖基化修饰，改变了 C-O-C 官能团的伸缩振动[39]。

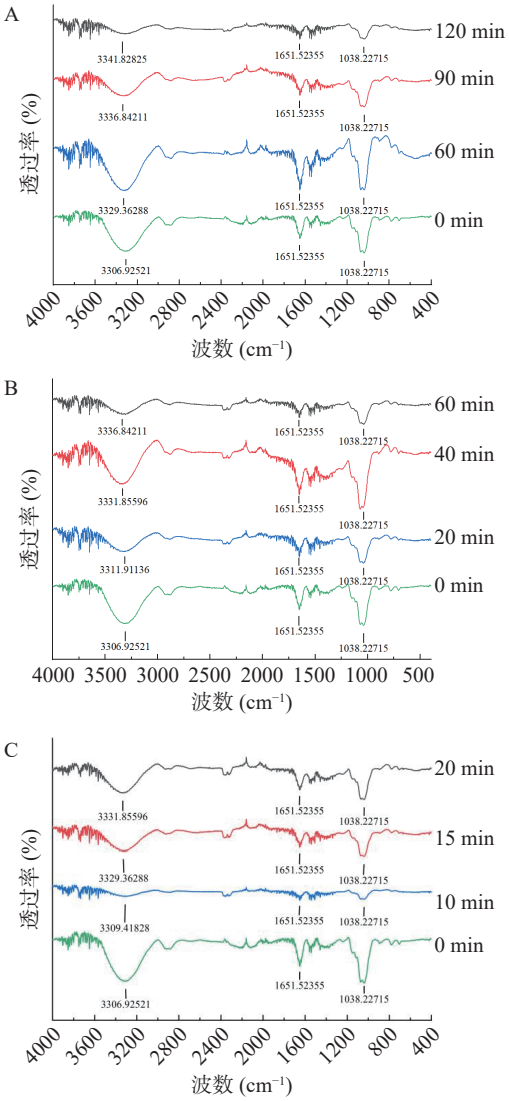


图 6 G-TSCP 的红外光谱图

Fig.6 Infrared spectrum of G-TSCP

对红外光谱的酰胺 I 带进行分析处理[40]，获得其二级结构的变化。加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽二级结构的影响如表 5 所示。在不同加热条件下，G-TSCP 的二级结构发生显著变化，α-螺旋含量小幅上升，β-折叠含量小幅下降，β-转角含量显著下

降，无规则卷曲含量显著增加。在不同条件下，G-TSCP 的二级结构的变化主要呈现为 β-转角向无规则卷曲转变的趋势。与 TSCP 相比，120 ℃ 加热 20 min 时，G-TSCP 中 β-转角的含量降低了 21.9%，无规则卷曲的含量增加了 21.2%。这与周伟等[41] 的研究有所差异，该研究指出鱼鳞明胶的糖基化导致了 α-螺旋含量下降，转化为 β-折叠、β-转角和无规则卷曲。这可能是由于糖链、蛋白质序列或者糖基化过程中修饰位点的差异，最终导致蛋白质二级结构变化规律的不同[42]。三种温度下不同反应时间的糖基化肽，120 ℃ 条件下的变化趋势更为显著，这表明在较高温度下，除糖基化修饰对蛋白二级结构的影响，高温作用可能也会降低蛋白自身的二级结构的稳定性。

表 5　加热条件对 G-TSCP 二级结构的影响

Table 5　Effects of heating conditions on the secondary structure of the glycation of peptides modified by galactooligosaccharide

温度（℃）	时间（min）	β-折叠	无规则卷曲	α-螺旋	β-转角
0	0	0.269±0.002^{a}	0.124±0.014^{e}	0.143±0.013^{c}	0.465±0.012^{b}
	60	0.271±0.004^{a}	0.123±0.004^{e}	0.122±0.012^{de}	0.484±0.010^{ab}
80	90	0.270±0.010^{a}	0.244±0.011^{bc}	0.115±0.008^{de}	0.371±0.008^{de}
	120	0.263±0.011^{ab}	0.265±0.014^{b}	0.107±0.007^{e}	0.365±0.007^{e}
	20	0.246±0.007^{bc}	0.132±0.012^{e}	0.118±0.018^{de}	0.504±0.009^{a}
100	40	0.253±0.014^{abc}	0.201±0.012^{d}	0.150±0.017^{b}	0.396±0.022^{cd}
	60	0.245±0.011^{bc}	0.218±0.017^{cd}	0.168±0.026^{ab}	0.370±0.015^{e}
	10	0.235±0.010^{c}	0.219±0.019^{cd}	0.139±0.031^{c}	0.407±0.018^{c}
120	15	0.240±0.016^{c}	0.262±0.012^{b}	0.163±0.022^{ab}	0.335±0.006^{f}
	20	0.242±0.019^{bc}	0.336±0.018^{a}	0.177±0.027^{a}	0.246±0.011^{g}

2.8　糖基化修饰对胶原肽消化特性的影响

2.8.1　胃、肠消化产物的水解度　加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽胃消化后水解度的影响如图 7A 所示。在 80 ℃ 下加热 90 min 后，G-TSCP 与 TSCP 的水解度无显著性差异，这表明较低的加热温度对于 G-TSCP 的消化性影响较小。这与 Yang 等[8] 的结论一致，该研究发现在模拟胃消化后，葡萄糖-卵清蛋白的糖基化产物未显示出明显的抗消化性。在 100 ℃ 加热 40 min 时，G-TSCP 的水解度显著低于 TSCP 的水解度（P<0.05），加热 20 min 与 60 min 时，两者水解度无显著性差异。120 ℃ 下加热的 G-TSCP 的水解度显著低于 TSCP（P<0.05），可能是蛋白肽的热聚集或热降解，隐藏了胃蛋白酶的消化位点[43]。

加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽胃肠消化后水解度的影响如图 7B 所示。随着加热时间的延长，G-TSCP 显示出了明显的抗消化性，在 80 ℃ 加热 120 min 时，G-TSCP 的水解度显著低于 TSCP 的水解度（P<0.05），相比于 TSCP 下降了 8.65%。在 100 ℃ 下加热 40 min 时，G-TSCP 的水解度最小，相比于 TSCP 下降了 9.81%。120 ℃ 加热至 20 min

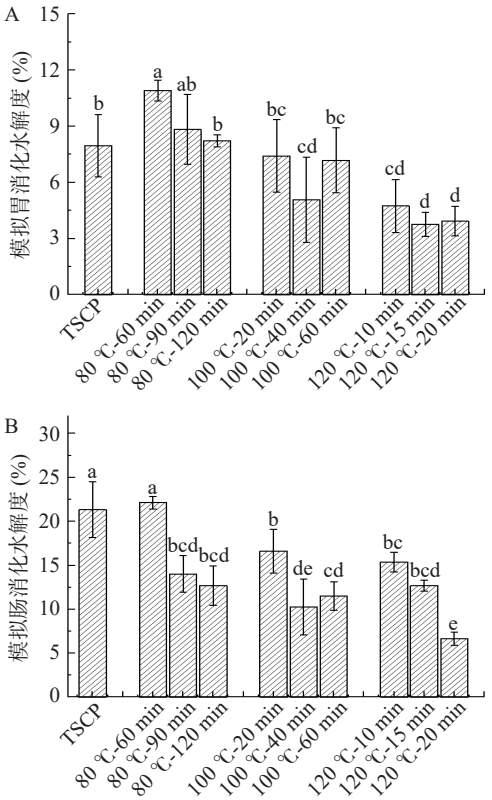


图 7　加热条件对 G-TSCP 胃消化后（A）与胃肠消化后（B）水解度的影响

Fig.7　Effect of heating conditions on the degree of hydrolysis of galactooligosaccharide collagen peptide after gastric digestion (A) and gastrointestinal digestion (B)

时，G-TSCP 的水解度显著低于 TSCP 的水解度（P<0.05），仅为 6.65%。造成这种现象的原因可能是胰蛋白酶的酶切位点位于 Lsy 与 Arg 羧基端肽键，而糖基化反应是氨基（主要是赖氨酸残基）与羰基化合物的复杂反应，当赖氨酸参与糖基化修饰后，屏蔽了胰蛋白酶酶切位点，消化性受到抑制[44]。

2.8.2　胃、肠消化产物的分子量分布　加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽胃消化后分子量分布的影响如图 8A~C 所示。根据分子量分布曲线发现，在三种温度下加热的 G-TSCP 与 TSCP 的分子量分布差异并不显著，主要分布于 1000~5000 Da 范围内，且随着加热时间的延长并无显著变化。这说明在胃消化过程中，糖基化修饰对胶原肽的消化性无显著影响[36]，与模拟胃消化中 G-TSCP 与 TSCP 的游离氨基含量变化基本相符。

加热条件对低聚半乳糖糖基化胶原肽胃肠消化后分子量分布的影响如图 8D~F 所示。糖基化修饰使得 TSCP 的分子量分布曲线向大分子量区域偏移。经模拟胃肠消化的 TSCP 分子量主要分布在 300~1000 Da，经过糖基化修饰后，G-TSCP 分子量在 300~1000 Da 范围内的比例降低，1000~5000 Da 所占比例增大，在 300 Da 以下与 5000 Da 以上的范围内无显著变化。这可能是由于糖基化修饰赖氨酸残基，隐藏了胰蛋白酶的酶切位点，使得糖基化肽在

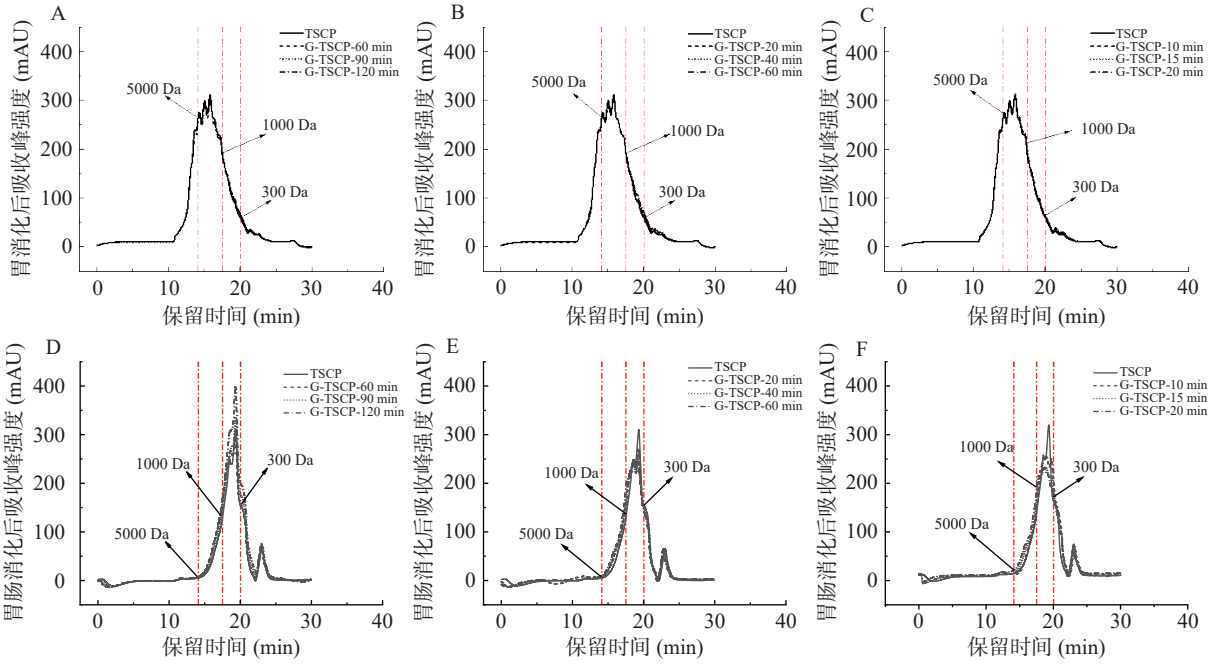


图 8 加热条件对 G-TSCP 胃、肠消化后分子量分布的影响

Fig.8 Effects of heating conditions on molecular weight distribution of the glycation of peptides modified by galactooligosaccharide after gastric digestion

注: 80 ℃(A、D)、100 ℃(B、E)、120 ℃(C、F)。

肠消化中能够保持大分子量的状态, 抑制蛋白酶的水解[45], 与消化前后游离氨基含量测定的结果基本一致。这与 Pinto 等[46] 研究相符, 研究指出葡萄糖糖基化修饰的 β-乳球蛋白和 β-酪蛋白经过模拟胃肠消化后, 蛋白质片段主要是大分子量片段, 糖基化产物具有明显的消化稳定性。

3 结论

本研究系统阐明了加热条件对低聚半乳糖修饰胶原肽的理化特性及消化稳定性的影响。研究结果表明, 加热条件显著影响胶原肽的糖基化修饰程度, 其中延长加热时间可促进美拉德反应产物的积累及中间产物的转化。通过相关性分析发现, 糖基化修饰胶原肽的荧光强度变化与整体色差及接枝度呈显著正相关(P<0.05), 而与 pH 变化呈极显著负相关(P<0.01)。与已有研究相比, 本研究进一步阐明了糖基化修饰过程中胶原肽二级结构的转变规律, 证实了 β-转角结构向无规则卷曲结构的转化特征。体外模拟消化实验结果表明, 糖基化修饰可显著改变胶原肽的空间构象, 提升胶原肽的消化稳定性。当加热条件为 100 ℃/40 min 时, G-TSCP 的接枝度为 8.07%, 糠氨酸含量为 5.83 μg/100 mg TSCP, 糖基化程度适中, 其胃肠消化水解度为 10.27%, 显著低于 TSCP 的消化水解度(P<0.05)。本研究为热处理胶原肽的糖基化修饰及生物利用研究提供了重要的理论依据, 可依据此结论制备缓释型蛋白产品如运动营养品、代餐产品或老年营养补充剂等。然而, 本研究仍存在一些局限性, 如未深入探讨糖基化修饰对胶原肽生物活性的影响机制, 建议后续研究可重点关注糖基化修饰胶原肽的构效关系及其在真实食品体系中的应用效果, 以期为胶原肽的功能性开发提供更全面的理论支撑。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 余小月, 赵钰, 李金玲, 等. 胶原蛋白的结构和消化吸收特性及营养价值评价进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(13): 386−394. [YU Xiaoyue, ZHAO Yu, LI Jinling, et al. Assessment of the structure, digestion absorption properties and nutritive value of collagen peptide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(13): 386−394.]

[2] 宋彦卓, 于明晓, 康春梅, 等. 水产胶原蛋白及其生物活性肽的研究进展[J]. 现代食品, 2022(11): 1−3. [SONG Yanzhuo, YU Mingxiao, KANG Chunmei, et al. Research progress on aquatic collagen and its bioactive peptides[J]. Modern Food, 2022(11): 1−3.]

[3] 李杨. 罗非鱼池塘养殖模式及该模式下高产技术的研究进展[J]. 2023(7): 1−4. [LI Yang. Research progress of tilapia pond culture model and high-yield technology under this model[J]. Agricultural Science, 2023(7): 1−4.]

[4] 丁俭, 黄祯秀, 杨梦竹, 等. 食源蛋白水解物/多肽与糖类物质美拉德反应产物在食品应用中的研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(1): 305−318. [DING Jian, HUANG Zhenxiu, YANG Mengzhu, et al. Research progress of Maillard reaction products of food-borne protein hydrolysates/polypeptides and carbohydrate in food application[J]. Food Science, 2023, 44(1): 305−318.]

[5] 吴若彤, 王兴伟, 夏书芹, 等. 外源氨基酸对牡蛎肽美拉德反应产物风味特性的调控作用[J]. 食品与生物技术学报, 2023, 42(3): 30−37. [WU Ruotong, WANG Xingwei, XIA Shuqin, et al. Regulation of exogenous amino acids on flavor characteristics of

Maillard reaction products of oyster peptides[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2023, 42(3): 30−37.]
[6] MA Yue, LIU Yue, YU Haiying, et al. Biological activities and *in vitro* digestion characteristics of glycosylated α-lactalbumin prepared by microwave heating: Impacts of ultrasonication[J]. LWT, 2022, 158: 113141.
[7] 赵玉滨. 英国红芸豆蛋白抗氧化肽糖基化改性及产物功能性质研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2021. [ZHAO Y B. Glycation and functional properties of antioxidative peptides from British red kidney bean protein[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2021.]
[8] YANG Qi, WANG Ying, YANG Meng, et al. Effect of glycation degree on the structure and digestion properties of ovalbumin: A study of amino acids and peptides release after *in vitro* gastrointestinal simulated digestion[J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131331.
[9] HAN Kaining, YAO Ye, DONG Shiyuan, et al. Chemical characterization of the glycated myofibrillar proteins from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and their impacts on the human gut microbiota *in vitro* fermentation[J]. Food & Function, 2017, 8(3): 1184−1194.
[10] NIU Lihong, SUN Xiaohua, TANG Juming, et al. Free and protein-bound N^{ε}-carboxymethyllysine and N^{ε}-carboxyethyllysine in fish muscle: Biological variation and effects of heat treatment[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2017, 57: 56−63.
[11] CHEN Kangni, YANG Qingfeng, HONG Hui, et al. Physicochemical and functional properties of Maillard reaction products derived from cod (*Gadus morhua* L.) skin collagen peptides and xylose[J]. Food Chemistry, 2020, 333: 127489.
[12] 夏明敬, 邱艳霞. 没食子酸对大豆蛋白-大豆油预乳化液稳定性的影响及其在肉糜中的应用[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(6): 24−28. [XIA Mingjing, QIU Yanxia. Effect of gallic acid on the stability of soybean protein-soybean oil pre-emulsion and its application in minced meat[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(6): 24−28.]
[13] 黄正花, 朱小燕, 李亮, 等. 糖对谷氨酰胺转氨酶交联米渣蛋白美拉德反应产物结构与功能的影响[J]. 食品科学, 2017(17): 53−59. [HUANG Zhenghua, ZHU Xiaoyan, LI Liang, et al. Effect of sugar on the structure and function of Maillard reaction products of cross-linking rice residue protein with glutamine transaminase[J]. Food Science, 2017(17): 53−59.]
[14] JIN Weiya, HAN Kaining, DONG Shiyuan, et al. Modifications in gut microbiota and fermentation metabolites in the hindgut of rats after the consumption of galactooligosaccharide glycated with a fish peptide[J]. Food & Function, 2018, 9(5): 2853−2864.
[15] WANG Chenying, LI Junhua, LI Xin, et al. Emulsifying properties of glycation or glycation-heat modified egg white protein[J]. Food Research International, 2019, 119: 227−235.
[16] 中华人民共和国农业部. 巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中复原乳的鉴定: NY/T 939-2016[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016. [Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Identification of reconstituted milk in pasteurized and UHT milk: NY/T 939-2016[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016.]
[17] LI Yong, WU Yaru, QUAN Wei, et al. Quantitation of furosine, furfurals, and advanced glycation end products in milk treated with pasteurization and sterilization methods applicable in China[J]. Food Research International, 2021, 140: 110088.
[18] 陈晴. 糖基化对鲐鱼鱼松品质及体外消化特性的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022. [CHEN Qing. Effects of glycoylation on the quality and in vitro digestion characteristics of mackerel pine[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022.]
[19] 曹振海, 乐彩虹, 陶宁萍, 等. 体外模拟消化对暗纹东方鲀鱼皮胶原蛋白肽结构特征及抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(23): 61−69. [CAO Zhenhai, LE Caihong, TAO Ningping, et al. Effects of simulated digestion on structural characteristics and antioxidant activity of collagen peptide in fish skin of Takifugu melanocarp[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(23): 61−69.]
[20] CORZO-MARTÍNEZ M, SORIA A C, BELLOQUE J, et al. Effect of glycation on the gastrointestinal digestibility and immunoreactivity of bovine β-lactoglobulin[J]. International Dairy Journal, 2010, 20(11): 742−752.
[21] 国家卫生健康委员会 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 胶原蛋白肽: GB 31645-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018. [National Health Commission, State Administration for Market Regulation. National food safety standard-Collagen peptide: GB 31645-2018[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018.]
[22] DELGADO-ANDRADE C, MORALES F J, SEIQUER I, et al. Maillard reaction products profile and intake from Spanish typical dishes[J]. Food Research International, 2010, 43(5): 1304−1311.
[23] LIU Junya, SHEN Siyuan, XIAO Naiyong, et al. Effect of glycation on physicochemical properties and volatile flavor characteristics of silver carp mince[J]. Food Chemistry, 2022, 386: 132741.
[24] 王晨莹. 糖基化蛋清蛋白的制备、性质及其在纳米颗粒中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2019. [WANG C Y. Preparation, Properties and application of glycated egg white protein in nanoparticles[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.]
[25] 郭丽萍, 王凤舞, 唐娟. 半乳糖—L-赖氨酸美拉德反应产物的抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(12): 19−23. [GUO Liping, WANG Fengwu, TANG Juan. Antioxidant activity of galactose-L-lysine Maillard reaction products[J]. Food Research and Development, 2012, 33(12): 19−23.]
[26] LIU S C, YANG D J, JIN Shuyi, et al. Kinetics of color development, pH decreasing, and anti-oxidative activity reduction of Maillard reaction in galactose/glycine model systems[J]. Food Chemistry, 2008, 108(2): 533−541.
[27] 廖阳, 胡居吾, 马永花, 等. 湿热条件下低聚木糖-乳清分离蛋白的美拉德反应及产物乳化性与流变性研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(12): 20−27,111. [LIAO Yang, HU Juwu, MA Yonghua, et al. Study on the Maillard reaction of xylooligosaccharide-whey protein isolate and the emulsification and rheology of the product under hot and humid conditions[J]. Modern Food Science & Technology, 2019, 35(12): 20−27,111.]
[28] 张严, 汪何雅, 钱和. 美拉德反应产物的褐变、荧光吸收及抗氧化性的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(6): 193−196. [ZHANG Yan, WANG Heya, QIAN He. Study on browning, fluorescence absorption and antioxidant activity of Maillard reaction products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(6): 193−196.]
[29] BOOSTANI S, AMINLARI M, MOOSAVI-NASAB M, et al. Fabrication and characterisation of soy protein isolate-grafted dextran biopolymer: A novel ingredient in spray-dried soy beverage formulation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 102: 297−307.
[30] GUL K, GAN Renyou, SUN Cuixia, et al. Recent advances in the structure, synthesis, and applications of natural polymeric hydrogels[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(14): 3817−3832.
[31] 刘杰, 邓利玲, 曾云军, 等. 糖基化改性对明胶乳化性和抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(19): 175−182.

［LIU Jie, DENG Liling, ZENG Yunjun, et al. Effects of glycation modification on emulsification and antioxidant activity of gelatin［J］. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(19): 175−182.］
［32］ 罗洲. 糖基化修饰对牛乳铁蛋白结构和功能特性的影响研究［D］. 成都: 成都大学, 2024. ［LUO Zhou. Effect of glycation modification on structure and functional properties of bovine lactoferrin［D］. Chengdu: Chengdu University, 2024.］
［33］ LI Sining, TANG Shanhu, HU Yang, et al. Effect of enzymatic hydrolysis of lactose combined with heat treatments on Maillard reaction of milk［J］. Food Science, 2017, 38(7): 122−128.
［34］ CORZO-MARTÍNEZ M, MORENO F J, OLANO A, et al. Structural characterization of bovine beta-lactoglobulin-galactose/tagatose Maillard complexes by electrophoretic, chromatographic, and spectroscopic methods［J］. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(11): 4244−4252.
［35］ 尉鑫欣, 肖功年, 熊旺, 等. 低热处理对牛乳模拟体系中糠氨酸的影响［J］. 中国食品学报, 2021, 21(5): 278−284. ［YU Xinxin, XIAO Gongnian, XIONG Wang, et al. Effect of low heat treatment on furoamino acid in milk simulation system［J］. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(5): 278−284.］
［36］ 周洁瑾, 张列兵, 梁建芬. 加热及贮藏对牛乳脂肪及蛋白聚集影响的研究［J］. 食品科技, 2010, 35(5): 72−76. ［ZHOU Jiejin, ZHANG Liebing, LIANG Jianfen. Effects of heating and storage on accumulation of fat and protein in milk［J］. Food Science and Technology, 2010, 35(5): 72−76.］
［37］ LAN Q Y, ZHANG Q, LIU L, et al. Research progress in protein glycation modification methods and product validation methods［J］. Food and Machinery, 2019, 35(2): 196−201.
［38］ ZHAO Tiantian, ZHANG Qi, WANG Shuguang, et al. Effects of Maillard reaction on bioactivities promotion of anchovy protein hydrolysate: The key role of MRPs and newly formed peptides with basic and aromatic amino acids［J］. LWT, 2018, 97: 245−253.
［39］ LEI Duo, MA Xiaojun. Effect of enzymatic glycosylation on the structure and properties of wheat gluten protein fibers［J］. Journal of Engineered Fibers and Fabrics, 2021, 16: 15589250211000337.
［40］ ZHAO Xiaoyan, CHEN Fusheng, XUE Wentong, et al. FTIR spectra studies on the secondary structures of 7S and 11S globulins from soybean proteins using AOT reverse micellar extraction［J］. Food Hydrocolloids, 2008, 22(4): 568−575.
［41］ 周伟, 胡熠, 张进杰, 等. 杨梅素和糖基化协同改性鱼鳞明胶可食膜［J］. 食品与发酵工业, 2018, 44(6): 58−66. ［ZHOU Wei, HU Yi, ZHANG Jinjie, et al. Optimization of properties of fish-scale gelatin edible films modified by myricetin associated with glycosylation［J］. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(6): 58−66.］
［42］ 张鹏, 杨一帆, 王辉, 等. 食品体系中糖基化蛋白质结构的表征和检测方法综述［J］. 光谱学与光谱分析, 2023, 43(9): 2667−2673. ［ZHANG Peng, YANG Yifan, WANG Hui, et al. Characterization and detection methods of glycated proteins in food systems［J］. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2023, 43(9): 2667−2673.］
［43］ KURIMOTO M, SHIMIZU K, OCHI H, et al. Pep-MS assay: Protease hydrolysis assay system using photo-cleavable peptide array and mass spectrometer［J］. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2019, 128(2): 156−161.
［44］ TEODOROWICZ M, van NEERVEN J, SAVELKOUL H. Food processing: The influence of the Maillard reaction on immunogenicity and allergenicity of food proteins［J］. Nutrients, 2017, 9(8): 835.
［45］ 李烨彤, 苏志光, 张惠, 等. 糖基化大豆蛋白酶解物的分离纯化及耐消化稳定性的研究［J］. 大豆科学, 2015, 34(3): 474−479. ［LI Yetong, SU Zhiguang, ZHANG Hui, et al. Study on isolation, purification, digestion resistance and stability of glycated soybean protease hydrolysates［J］. Soybean Science, 2015, 34(3): 474−479.］
［46］ PINTO M S, LÉONIL J, HENRY G, et al. Heating and glycation of *β*-lactoglobulin and *β*-casein: Aggregation and *in vitro* digestion［J］. Food Research International, 2014, 55: 70−76.